

Untersuchungen zur Beeinflussung der Immunproteinbildung durch Gabe von Desoxy-und Ribonukleinsäure

von

Mahmoud El Sanhoury
aus Dongola/Sudan

1965

1966 # 210



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548619_0090



Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen - Nürnberg

Direktor: Professor Dr. med. N. H E N N I N G

Untersuchungen zur Beeinflussung der Immunproteinbildung

durch Gabe von Desoxy - und Ribonukleinsäure.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH - ALEXANDER - UNIVERSITÄT
zu
E R L A N G E N - N Ü R N B E R G

vorgelegt von
Mahmoud El Sanhoury
aus Dongola/Sudan

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Referent: Prof. Dr. N. HENNING

Dekan: Prof. Dr. Dr. G. STEINHARDT

Tag der mündlichen Prüfung: **22.12.1965**

Untersuchungen zur Beeinflussung der Immunproteinbildung durch Gabe von Desoxy- und Ribonukleinsäure.

Bei Krankheiten, deren Ursache in einer Antikörper-Produktion mit pathogener Wirkung zu suchen ist, so bei den Autoimmunkrankheiten des Blutes, besteht ein vitales Interesse, die pathogene Antikörperbildung zu blockieren oder wenigstens abzuschwächen. Auch die nach Transplantation homo- oder heterologer Zellen und Gewebe gesetzmäßig eintretende spezifische Antikörperbildung, die zur Abstoßung des Transplantates führt, bedarf der Hemmung, wenn die Transplantation erfolgreich sein soll. Es fehlte deshalb nicht an Versuchen, die Abwehrreaktion des Empfängers auszuschalten oder im anderen Falle die autoaggressive Antikörperbildung zu hemmen (Lit. im einzelnen bei FRENGER et al.). Andererseits kann es von großer Bedeutung sein, die spezifische Antikörperbildungsfähigkeit anzuregen, z.B. bei chronischen Infektionskrankheiten, beim Antikörper-Mangelsyndrom und bei immunologischer Toleranz.

Für die normale Proteinsynthese, insbesondere auch die Immunproteinbildung, ist Voraussetzung, daß dem Organismus intakte Nukleinsäuren zur Verfügung stehen. Für diesen Vorgang haben körpereigene Desoxyribonukleinsäure (DNS), Messenger-Ribonukleinsäure (M-RNS) und Ribosomen-Ribonukleinsäure (RNS) bekannterweise entscheidende Bedeutung. Es erschien deshalb denkbar, daß durch Zuführung oder Entzug dieser Nukleinsäuren eine Änderung in der Protein- bzw. Antikörperbildung in der einen oder anderen Weise zu erreichen ist. Die Immunglobuline dürften bei der Beeinflussung

der Proteinsynthese am ehesten betroffen sein, da sie eine besonders hohe Neubildungsrate aufwiesen.

Im Experiment hat sich der einfachere Weg zunächst in der Zufuhr von heterologer DNS und RNS angeboten um festzustellen, ob eine Beeinflussung der Antikörper-Produktion auf diese Weise zu erzielen ist, wobei eher an eine Steigerung gedacht wurde.

Vorliegende Untersuchungsergebnisse in anderem Zusammenhang, so von PANTIĆ et al. (9), TARNOK und FODOR (10), ließen einen Effekt möglich erscheinen. Nach den Ergebnissen dieser Autoren war jedoch eher zu erwarten, daß zugeführte Nukleinsäuren keinen Impuls für die Proteinsynthese, vielmehr zunächst eine Hemmung der Antikörper-Biosynthese bedingen, vor allem weil Nukleinsäuren einen zytotoxischen Effekt entfalten sollen (5). Direkte Antikörpermessungen wurden nicht vorgenommen. Diese Fragen sollten in den eigenen experimentellen Untersuchungen einer Klärung näher gebracht werden.

Material und Methodik

Für die Beurteilung einer möglichen Beeinflussung der Antikörperbildung durch DNS und RNS wurde unter gleichzeitiger Applikation dieser Substanzen eine Hämagglutininbildung im Tierexperiment durch Gabe heterologer Erythrozyten induziert. Im einzelnen wurde dabei - wie folgt - vorgegangen:

5 Gruppen zu je 5 gleichaltriger und gleichschwerer Kaninchen erhielten gewaschene menschliche Erythrozyten (20%ige Suspension in physiologischer NaCl-Lösung). Es wurde bei der Sensibilisierung mit einer relativ hohen Dosis begonnen (5 ml) und bald auf eine Erhaltungsdosis von 0.5 ml reduziert, wobei während des Versuchs 7-8 Injektionen verab-

reicht wurden. Anfänglich erhielten die Tiere jeden 2.Tag eine Injektion, späterhin in etwa wöchentlichen Abständen. In wöchentlichen Abständen wurde außerdem allen Tieren Blut entnommen, das Serum abgetrennt, inaktiviert und der Hämagglutininintiter unter Verwendung von menschlichen Erythrozyten bestimmt.

Gruppe I der Tiere erhielt bereits 2 Tage vor Beginn der Immunisierung mit Humanerythrozyten 10 mg DNS ⁺⁾ parenteral. Diese Dosis wurde jeden 2.Tag während der gesamten Versuchsdauer appliziert.

Gruppe II erhielt in gleichem Modus die gleiche DNS, jedoch 250 mg pro Dosis und Tier während des Versuches.

Gruppe III bekam im gleichen Modus 10 mg RNS ⁺⁺⁾ pro Dosis und Tier. Schließlich

Gruppe IV 250 mg RNS jeden 2.Tag pro Dosis und Tier während der gesamten Versuchsdauer.

Gruppe V diente als Kontrollgruppe. Die Tiere dieser Gruppe bekamen lediglich eine Sensibilisierung mit Humanerythrozyten.

Der Hämagglutininintiter im Kaninchenserum wurde - wie folgt - bestimmt: Mit 0.5 ml hitzeinaktiviertem Kaninchenserum wurde eine geometrische Verdünnungsreihe, unter Verwendung einer gleichen Menge physiologischer NaCl-Lösung, also beginnend

+) DNS: Nierdermolekulare Substanz aus Heringsspermatozoen.

++) RNS: Aus Hefe isoliert.

DNS und RNS wurden in Ag.dest gelöst. Sie wurden auch in hoher Dosis gut vertragen. Anaphylaktische Erscheinungen traten nicht ein. Die Lösung der hohen Nukleinsäure-Dosis bereitete gewisse Schwierigkeiten.

mit einer Verdünnung von 1:2, angesetzt. Menschliche Erythrozyten wurden serumfrei gewaschen und eine 5%ige Suspension hergestellt. Von dieser wurden den einzelnen Röhrchen der Verdünnungsreihe je 0.5 ml zugesetzt. Nach einstündiger Inkubation bei 37° C im Brutschrank und 1/2stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde der Ansatz auf eine Hämagglutination geprüft. Die Agglutination der Erythrozyten war dabei bereits makroskopisch leicht zu beurteilen. Das letzte noch positive Röhrchen der Verdünnungsreihe wurde in seiner Verdünnung als Endtiter gewertet.

E r g e b n i s s e .

Folgende Ergebnisse wurden erzielt (sie gehen aus den Abbildungen I und II hervor):

Verhalten des Hämantikörpertiters beim Kaninchen unter Gabe von DNS (Abb.I).

a) Bei niedriger DNS-Dosis (10 mg/Inj. und Tier)

Tabelle 1

<u>Folge der Blut-</u> <u>entnahme</u>	<u>Mittelwerte (X) der</u> <u>Hämagglutinititer (log 2)</u>
1	0 (Ausgangswert)
1.	3.6
2.	8.0
3.	8.4
4.	7.8
5.	7.4
6.	1.5

b) Bei Applikation einer hohen DNS-Dosis (250 mg/Inj.u.Tier)

Tabelle 2

Folge der Blut- entnahme	Mittelwerte (X) der Hämagglutininintiter (log 2)
- 1	0
1.	3.8
2.	8,4
3.	8,6
4.	7,1
5.	6.8
6.	5.7

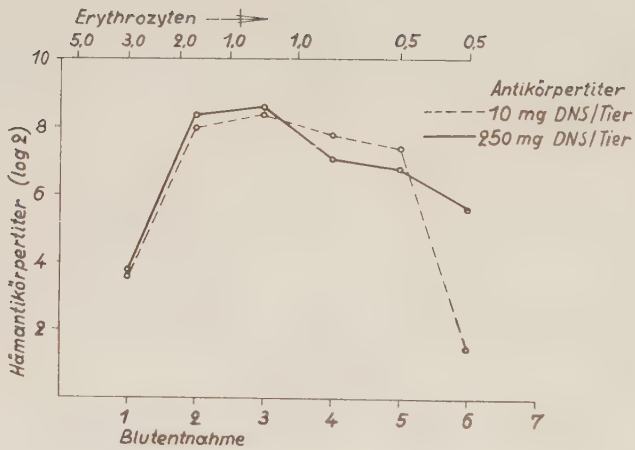


Abb. I: Verhalten des Antikörpertiters nach Gabe einer unterschiedlich hohen Dosis DNS.

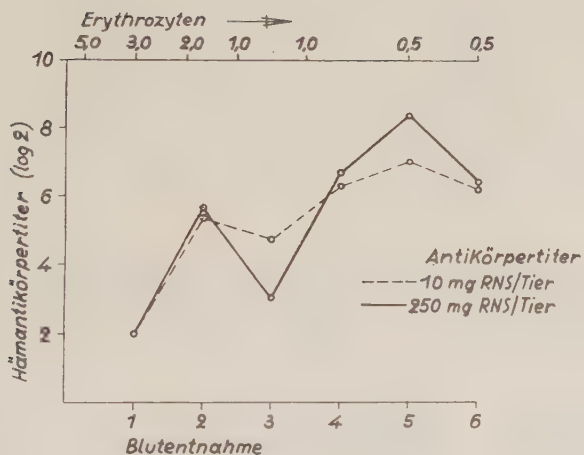


Abb.II Antikörpertiter unter Applikation einer unterschiedlich hohen Dosis von RNS.

Die Werte beider Tabellen sind in Abbildung I graphisch dargestellt. Man kann aus diesem Schaubild erkennen, daß der Hämantikörper während der Gabe von Humanerythrozyten und einer niedrigen sowie hohen Dosis DNS prompt in Erscheinung treten und ihr Titer einen entsprechenden Anstieg zeigt. Ein sicherer Unterschied des Titerverhaltens unter verschiedenen hoher Dosis DNS ist dabei nicht festzustellen. Bei der Tiergruppe mit höherer DNS-Dosis scheint der Titer etwas länger erhöht zu bleiben als bei der anderen Tiergruppe. Der Antikörpertiter unter DNS erreicht annähernd den Mittelwertstiter, wie er bei einer Tiergruppe erhalten wurde, die lediglich Humanerythrozyten bekommen hat (Kontrollgruppe).

Verhalten des Hämantikörpertiters unter Gabe von RNS (Abb.II)

a) Bei niedriger Dosis (10 mg RNS/Inj. und Tier)

Tabelle 3

Folge der Blut- entnahme	Mittelwerte (X) der Hämagglutininintiter (log 2)
1	0
1.	2.0
2.	5.35
3.	4.7
4.	6.3
5.	7.0
6.	6.2

b) Bei Applikation einer hohen RNS-Dosis (250 mg RNS/Inj. und Tier)

Tabelle 4

Folge der Blut- entnahme	Mittelwerte (X) der Hämagglutinititer (log 2)
- 1	0
1.	2.0
2.	5.7
3.	3.0
4.	6.7
5.	8.4
6.	6.4

In Abbildung II sind die Werte der letzten beiden Tabellen graphisch dargestellt. Man kann hieraus erkennen, daß zwar ein Hämagglutinititer nachweisbar wird, dieser aber in beiden Tiergruppen, d.h. sowohl unter Applikation einer niedrigen wie auch einer hohen Dosis von RNS, nur allmählich ansteigt. Ein sicherer Unterschied der Werte innerhalb der beiden Gruppen ist nicht festzustellen. Trotz des verzögerten Anstieges erreichen die Titer auch hier die Werte, wie sie unter Applikation von DNS erzielt wurden, ebenso demnach auch entsprechend der Kontrollgruppe.

D i s k u s s i o n .

Die Proteinbiosynthese, in die die Bildung der Immunproteine eingeschlossen ist, benötigt zu einem ungestörten Funktionieren ausreichend intakte Nukleinsäuren bzw. deren Vorstufen. Maßgeblich hierfür sind neben anderen Substanzen DNS, M-RNS und L-RNS (Einzelheiten bei Harbers). Der Ablauf

der Proteinsynthese kann durch Beeinflussung der Nukleinsäuren oder gewisser außerdem hierfür notwendiger Enzyme gestört und damit gehemmt oder gar blockiert werden. Dies ist heute durch eine Reihe von Stoffen, z.B. Antimetaboliten, zytostatische Antibiotica, Pyrimidin-Antagonisten, Corticosteroide, spezifische Antiseren, Desoxyribo- und Ribonuklease, möglich, woraus eine mehr oder minder starke Hemmung der Proteinbildung resultiert (6). Diese Hemmung ist in ihrem Ausmaß naturgemäß abhängig von der Höhe der applizierten Dosis, der Allgemeinverträglichkeit der blockierenden Substanz u.a.m. Während solcher Maßnahmen ist die Immunproteinbildung am ehesten und intensivsten betroffen, da sie unter den Proteinen die größte Neubildungsrate, vor allem während einer Sensibilisierung oder Immunisierung aufweist. Diese Tatsache hat, wie schon eingangs angeführt, eine Bedeutung bei Erkrankungen gewonnen, die mit einer pathogen wirkenden Antikörperproduktion einhergehen, so beispielsweise bei den Autosensibilisierungskrankheiten. Umgekehrt kann es von Bedeutung sein, die Antikörperbildungsfähigkeit, etwa bei chronischen Infektionen oder bei Agammaglobulinämie, durch Zufuhr von Nukleinsäuren anzuregen versuchen, wenn diese eine stimulierende Wirkung auf die Antikörperbildung erkennen lassen.

Diese Möglichkeit zu untersuchen, war vorwiegende Aufgabe in den eigenen Tierversuchen. Dabei war neben einem möglichen stimulierenden Effekt spezifischer oder unspezifischer Art (3) theoretisch auch eine kompetitive Hemmung durch die Zufuhr speziesfremder Nukleinsäuren zu diskutieren.

Die Ergebnisse zeigen:

1. unter Gabe von Herings-DNS, daß die Antikörperbildung prompt eintritt und kein sicherer Unterschied unter zwei

Tiergruppen festzustellen ist, die eine unterschiedlich starke Dosis von DNS erhalten haben. Der Antikörpertiter verhält sich dabei jeweils annähernd dem der Kontrollgruppe. Bei der Tiergruppe mit höherer DNS-Dosis bleibt der Titer allenfalls etwas länger erhöht als bei Applikation einer niedrigen Dosis.

2. Unter Gabe von Hefe-RNS wurde bei beiden Tiergruppen ein allmählicher Anstieg des Hämantikörpertiters beobachtet, der sich in beiden Gruppen (niedrige und hohe RNS-Dosis) annähernd gleich verhielt. Er erreichte - wenn auch verzögert - hier ebenfalls Werte, wie sie unter DNS-Applikation festgestellt wurden.

Resumiert man, so muß man feststellen, daß im Tierversuch unter unterschiedlich hoher Dosis speziessfremder DNS und RNS keine sichere Beeinflussung der Immunproteinbildung erreicht werden konnte; allenfalls ist unter RNS-Gabe eine Verzögerung des Antikörper-Anstieges zu beobachten, wofür jedoch auch andere Gründe maßgeblich sein können. In keinem Falle wurde eine Steigerung der Synthese von Antikörpern im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen. Außerdem wurde unter der Gabe der Nukleinsäuren kein anaphylaktischer Schock beobachtet, woraus auf eine geringe oder gar fehlende Antigenität reiner Nukleinsäuren geschlossen werden kann (1).

Überblickt man die in der Literatur niedergelegten Ergebnisse, so ist bisher über die Wirkung einer Applikation von Nukleinsäuren relativ wenig greifbar. Von DYKERHOFF und GAUS () wird eine Wirkung heterologer RNS auf die Proteinsynthese beim alternden Menschen postuliert; durch RNS sei eine Anregung der Proteinbildung zu beobachten. Klinische Meßergebnisse werden nicht mitgeteilt. Außerdem werden Erfolge mit RNS

in der Behandlung arteriosklerotischer Veränderungen beschrieben (2,4). Nach COOK et al. (3) zeigen experimentelle Untersuchungen, daß unter Gabe von Hefe-RNS die Resistenz der Versuchstiere zunahm, ein Effekt, der eher als unspezifisch zu betrachten ist. Das gleiche könnte auch für die Ergebnisse der anderen Autoren gelten. FLOERSHEIM (5) konnte im Experiment einen zytotoxischen Effekt beider Substanzen auf Knochenmarkszellen beobachten, wogegen PANTIĆ et al. (9) feststellten, daß unter letaler Dosis von Röntgenstrahlen und gleichzeitiger Gabe homologer hochpolymerisierter DNS Knochenmark und Milz weniger zerstört waren als bei den Kontrollen. Hier wäre also ein protektiver Effekt anzunehmen. Andererseits zeigt sich nach JANKOVIĆ et al. (8), daß die Gabe eines Anti-DNS-Protein, also ein DNS-Protein-spezifisches Antiserum, keinen signifikant differenten Einfluß auf die Antikörpersynthese gegenüber einer Kontrollgruppe hat. Dagegen war unter einem Anti-Ribonukleoprotein eher ein hemmender Einfluß nachzuweisen.

Die bisherigen Ergebnisse der Literatur sind demnach different, aber auch unterschiedlich in der Fragestellung und Zielsetzung. Eine weitere Klärung des hier angeschnittenen Problems dürfte durch Gabe homologer, organspezifischer und hochpolymerisierter Nukleinsäuren erreicht werden, da dieser Versuch sichere Aussagen zuläßt. Die eigenen Ergebnisse können in ihrem Ausfall durch die Verwendung von Nukleinsäuren heterologer Herkunft beeinträchtigt worden sein, obwohl auch für diese von DYKERHOFF und GAUS eine Wirkung auf die Proteinbildung angenommen wird. Nach unseren Ergebnissen ist dies beim Tier jedoch nicht der Fall.

Zusammenfassung.

In experimentellen Untersuchungen wurde unter Applikation unterschiedlicher Dosen von heterologer DNS und RNS die Antikörperbildungsfähigkeit als Ausdruck der Proteinbiosynthese am Kaninchen geprüft. Eine Steigerung der Antikörpersynthese über das Normale hinaus durch die Gabe von DNS und RNS konnte nicht beobachtet werden. Es ergaben sich aber auch keine genügenden Hinweise für eine Hemmung; allenfalls ist eine Verzögerung im Auftreten der Serumantikörper unter RNS anzunehmen. Klinische Erfolge mit solchen Substanzen sollten kritisch betrachtet werden.

L i t e r a t u r

1. Bielka, H., F. Pasternak, F. Hoffmann, L. Venker, A. Hagen und W. Förster: Biochemische und immunologische Untersuchungen an Desoxyribonukleinsäuren aus Myobakterium phlei und Thy-mus.
Acta biol. med. germ. 11, 395 (1963).
2. Cameron, D.E. and L. Solyom: Effects of ribonucleic acid on memory, Geriatrics 16, 74 (1961).
3. Cook, L., A.B. Davidson, D.J. Davis, H. Grenn and E.J. Fellows: Ribonucleic Acid: Effect on Con-ditioned Behavior in Rats.
Science 141, 268 (1963).
4. Dykerhoff, H. und W. Gaus: Organspezifische Ribonuklein-säuren: Wirkstoffe der Zellulärtherapie.
Fortschr. Med. 83, 253 (1965).
5. Floersheim, G.L.: Cytotoxic Actions of Nucleic Acids.
Experimentia 18, 328 (1962).
6. Frenger, W., J. Wollensak, N. Henning und A. el Hassan: Über die Hemmungen der Antikörperbildung durch Corticesteriode und Zytostatika.
Med.Welt 1965, 920 et 992.
7. Harbers, E.: Die Nukleinsäuren. Thieme Stuttgart 1964.
8. Janković, V., N.K. Isaković and J. Horvat: In Immanology partial Inhibition of Antibody Fortations by means of Anti Ribonueleoprotein Seren.
Nature 190, 1218 (1961).
9. Pantić, V., N. Stosić, D. Kanazir, A. Bécarevic and G. Jo-vicki: Recovery Effect of Highly Polymerized Homologous Liver Deoxyribonucleic Acid Injected into Lethally Irradiated Rats Histological Examination of the Spleen and Bone Marrow. Nature 194, 942 (1962).
10. Tárnok, I. und T. Fodor: Über die Wirkung von Desoxyribo-nucleinsäuren auf die experimentelle Meer-schweinchentuberkulose.
Acta Tuberc. Scand. 41, 282 (1962).

Es ist mir eine angenehme Pflicht,
Herrn Professor Dr. N. H e n n i n g
meinen verbindlichen Dank dafür aus-
zusprechen, daß er mir die Möglichkeit
gab, an seiner Klinik arbeiten zu dür-
fen.

Herrn Dr. med. W. F r e n g e r danke
ich sehr herzlich für die Überlassung des
Themas, für sein unermüdliches Entgegen-
kommen bei der Durchführung der Arbeit.

Mein Lebenslauf

Ich wurde am 25.3.1934 in Dongola/Sudan als siebtes Kind des Kaufmanns Osman El Sanhourî und seiner Ehefrau Aîscha Sulîman geboren. Nach dem Besuch der Volksschule in Dongola besuchte ich die Intermediate School in Berber und die Secondary School in Kairo, wo ich 1952 das Abitur ablegte.

Inzwischen war ich in Khartoum angestellt. Dann begann ich das Medizinstudium in Deutschland, legte in Mainz 1960 das Vorphysikum, in Erlangen im Februar 1962 das Physikum ab und habe am 13.12.1965 das Staatsexamen abgeschlossen.

Offsetdruck + Fotodruck

Josef Hogl

8520 Erlangen, BrûxerstraÙe 9, (Nâhe Rôthelheimbad,) Tel. 15336

Offsetdruck + Fotodruck

- J. Hogl, Erlangen, Brüxer Straße 9, (Nähe Röthelheimbad) Telefon 15336 -